



Title	Diosgenin and diosgenyl saponins : Investigating the relevance of cholesterol on their membrane behavior
Author(s)	Ondevilla, Candice Velasquez Joan
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82013
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

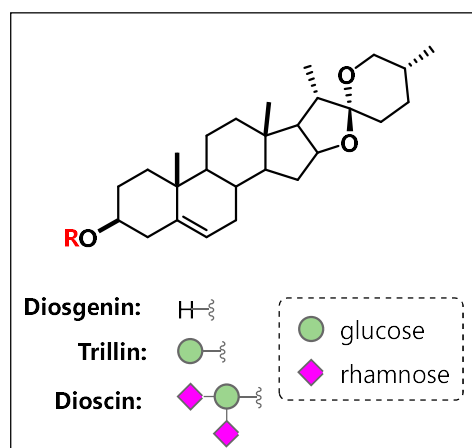
The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (Joan Candice Ondevilla)	
Title	Diosgenin and diosgenyl saponins: Investigating the relevance of cholesterol on their membrane behavior (ジオスゲニンとジオスゲニルサポニン—膜挙動におけるコレステロールとの比較を中心に—)

Abstract of Thesis

The diosgenyl saponins (DGs) have gained pharmacological importance due to their anti-cancer, neuro- and cardio-protective properties.¹ These saponins possess a diosgenin (DGN) aglycone with a spirostanol steroidal structure with different sugar pendants. [Figure 1]



[Fig.1] Structure of the diosgenyl saponins

This study aims to understand the bioactivities of the DGs through their specific association with cholesterol (Cho) in the membrane. Moreover, since the biological effects of the saponins have been attributed to their aglycone,² probing the membrane behavior of DGN, aids in recognizing the structural effect of the aglycone in the membrane activities of DG. To bring to light the exact nature of these interactions, different biophysical techniques such as solid-state NMR, fluorescence spectroscopy and differential scanning calorimetry (DSC) have been employed.

To begin with, the membrane effects of DGN was investigated. DGN has been studied extensively for its pharmacological potential.³ DGN is a sterol with a structural similarity to cholesterol (Cho). In particular, DGN possesses an identical tetracyclic backbone but the spiro-acetal structure of DGN is significantly different from the linear C₈ sidechain of Cho.

We examined the effects of the common tetracyclic cores and the different sidechains on the physicochemical properties in phosphatidylcholine (PC) lipid bilayer membranes. In diphenylhexatriene

(DPH) anisotropy experiments, DGN up to 30 mol% stably bound to the POPC bilayers and induced a similar ordering effect on POPC to Cho. Fluorescence experiments to evaluate membrane hydration using laurdan and prodan also revealed a similar tendency for Cho and DGN. In ^2H NMR, DGN and Cho showed similar quadrupolar coupling values in POPC bilayers, which also suggested that DGN is oriented parallel to the membrane normal like Cho. These results suggest that DGN below 30 mol% has comparable effects with Cho on basic biomembrane properties. It was also suggested that the affinity of DGN-Cho in the membrane is stronger than that of DGN-DGN or Cho-Cho interaction. Equimolar mixtures of DGN and Cho in POPC resulted to an additive effect in membrane ordering and lipid packing in fluorescence studies. Cho influences the behavior of DGN in membranes and these results indicate moderate interaction of Cho and DGN.

For the diosgenyl saponins such as trillin and dioscin, the results of similar biophysical experiments revealed that the amphiphilicity of the saponins enable them to interact with phospholipid model membranes regardless of Cho with no further membrane changes. However, in the presence of Cho, it was observed that the increasing number of sugar moieties of the saponin results in an escalating strength of saponin-cholesterol interaction. Especially for dioscin, having three sugars, the membrane activity was enhanced and led to perturbation and further disruption of the membrane. For trillin, laurdan and prodan fluorescence in membrane and solid state NMR results demonstrate that trillin, with one sugar residue, rigidifies membrane similar to Cho and maintains the integrity of the bilayer. The data suggest that trillin weakly interacts with Cho as well as the membrane lipids, thus favorably incorporating itself into the bilayer.

The rigid and planar aglycone of DGs allow them to penetrate the membrane. Consequently, as the saponins partition in the membrane, they can diffuse and easily gain access to membrane constituents such as membrane receptors and enzymes, and could subsequently exert their biological properties.

REFERENCES:

- (1) Zhang, X.; Jin, M.; Tadesse, N.; Dang, J.; Zhou, T.; Zhang, H.; Wang, S.; Guo, Z.; Ito, Y. *J. Ethnopharmacol.* **2018**, *220*, 283–293. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.017>.
- (2) Brain, K.; Hadgraft, J.; Al-Shatalebi, M. *Planta Med* **1990**, *56*.
- (3) Cai, B.; Zhang, Y.; Wang, Z.; Xu, D.; Jia, Y.; Guan, Y.; Liao, A.; Liu, G.; Chun, C.; Li, J. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2020**, *2020*, 3153082. <https://doi.org/10.1155/2020/3153082>.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Joan Candice Velasquez Ondevilla)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 教 授	村田 道雄
	副 査 教 授	梶原 康宏
	副 査 教 授	北條 裕信
ステロールの配糖体であるサポニンは植物に広く分布し、その界面活性作用により細胞膜に結合することによって種々の生物活性を発現する。ヤムイモに含まれる diosgenin(サポニンのステロール部分に相当)、および、そのサポイン類として trillin や dioscin は抗がん作用を含む薬理活性で注目されている。Ondevilla 氏はこれら化合物の細胞膜に対する作用を精密に評価するためにリン脂質二重膜を用い、それらの分子挙動をコレステロールと比較しながら詳細に解明した。特に、サポニンのステロールの環状部分と構造が類似するコレステロールと比較し、それらの異同を調べることによって膜物性に対する影響を正確に評価した。実験手法としては、固体 NMR(重水素とリン) 測定、示差走査熱量計、蛍光プローブによる蛍光スペクトルおよび異方性測定を用い、水和不飽和リン脂質膜(一部は飽和リン脂質)中のコレステロール濃度を変えて測定を行った。これらの結果は、diosgenin およびそのサポニン誘導体は、リン脂質膜の流動性を低下させる傾向があることを示した。すなわち、蛍光プローブによる異方性実験において、30 mol%以下の濃度では diosgenin はリン脂質二重膜に安定して結合し、コレステロールと同様の秩序効果をもたらした。脂質膜の水和を評価するための蛍光実験でも、diosgenin はコレステロールと同様の傾向を示し、さらに、重水素固体 NMR スペクトルでも、両者は脂質二重膜で同様の四重極カップリング値を示した。これは、diosgenin も膜法線に平行に配向していることを示唆している。一方、同 NMR 測定において、高濃度の diosgenin ではこの秩序化作用がコレステロールに比べて低いこと、さらに、蛍光プローブの測定結果から、脂質二重膜構造の安定性を低下させることが明らかとなった。脂質二重膜における両者の親和性は、diosgenin 同士またはコレステロール同士の親和性よりも強いことも示唆された。Trillin や dioscin などのサポニンに対して、上述の測定手法を適用した結果、これらサポニンは比較的膜物性に影響を与えることなく、コレステロールを含まない脂質二重膜と相互作用できることが明らかになった。一方、コレステロールの存在下では、サポニンの糖ユニット数の増加にともない、脂質膜への結合と膜変形作用が増大し、特に 3 つの糖を有する dioscin は膜構造の破壊をもたらした。糖が 1 つの trillin はコレステロールと同様に膜を秩序化させ、二重膜の安定性を維持することを示している。以上の要旨によって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。		